

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enzim merupakan suatu biopolimer yang berperan penting dalam mengkatalis reaksi kimia yang berjalan dalam tubuh makhluk hidup, seperti saat memecah nutrisi untuk menghasilkan energi. Enzim bekerja sangat efektif dan merupakan katalis yang spesifik dalam seluruh proses metabolik, dimana enzim bekerja untuk mempercepat suatu reaksi dengan substrat yang ada (Murray *et al.*, 2009). Enzim selulase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis polisakarida (selulosa) menjadi gula sederhana dengan memutuskan ikatan glikosidik β -1,4 pada selulosa, selobiosa, dan turunan selulosa lainnya (Fessenden & Fessenden, 1986).

Dalam bidang farmasi enzim selulase sering digunakan untuk melancarkan pencernaan atau banyak digunakan untuk menghidrolisis selulosa menjadi derivat-derivatnya sehingga dapat digunakan sebagai bahan tambahan produk farmasi, contohnya : metilselulosa, etilselulosa, hidroksipropilmetilselulosa, hidroksipropilselulosa, natrium karboksimetilselulosa yang sering digunakan sebagai bahan penyalut, pengikat, pengisi, penghancur, pelicin pada proses pembuatan tablet, dan sering digunakan sebagai *suspending agent* (Cantor *et al.*, 2008). Dalam industri pangan enzim selulase dapat digunakan untuk meningkatkan hasil teh dan kopi dalam proses pengolahannya. Enzim selulase juga sering digunakan pada industri pulp dan kertas karena dapat memecah ikatan antar serat yang terdapat dalam kayu. Selain itu enzim selulase dapat digunakan untuk biokonversi selulosa dari limbah sehingga banyak limbah yang kaya akan selulosa dapat di olah menjadi kompos (Klemm *et al.*, 1998).

Enzim selulase banyak dimiliki oleh hewan yang mengandung beberapa bakteri selulolitik, antara lain *Acetobacter xylinum* (Klemm *et al.*, 1998), *Clostridium*, *Actinomycetes*, *Bacteroides succinogenes*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminococcus albus*, *Methanobrevibacter ruminantium* (Gupta *et al.*, 2011). Selain itu enzim selulase dapat diproduksi oleh tumbuhan, salah satunya benih dari tanaman kapas atau batang tanaman tahunan seperti jerami gandum atau bambu (Klemm *et al.*, 1998). Sumber selulase lainnya bisa berasal dari fungi yaitu *Trichonympha* (Nelson & Cox, 2008), *Chaetomium*, *Fusarium*, *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, dan *Aspergillus* (Gupta *et al.*, 2011).

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan isolasi bakteri penghasil enzim selulase dari limbah ampas tebu, dan diperoleh empat isolat positif. Salah satu isolat bakteri telah dikarakterisasi secara biokimia dan disimpulkan merupakan bakteri Gram Positif. Isolat bakteri ini untuk selanjutnya diberi kode isolat SF01. Berdasarkan pengamatan secara mikroskopis maupun makroskopis serta berdasarkan uji-uji biokimia seperti uji indol, uji katalase, uji oksidase, uji fermentasi glukosa dan laktosa, uji pembentukan senyawa H_2S , uji pembentukan gas CO_2 , uji motilitas, serta uji IMViC, diduga isolat bakteri SF01 yang terdapat dalam limbah ampas tebu dan mampu menghasilkan enzim selulase ialah *Bacillus*. Dari uji biokimia yang dilakukan baik secara konvensional maupun dengan menggunakan kit, diduga isolat bakteri SF01 memiliki kedekatan karakter dengan *Bacillus pumilus* (Susanto, 2012).

Pada proses uji biokimia untuk mengidentifikasi suatu isolat bakteri tidak dapat memberikan hasil yang positif pada setiap uji dikarenakan setiap spesies bakteri memiliki karakteristik yang berbeda dan spesifik terhadap masing-masing uji. Selain itu pengujian biokimia dapat memberikan hasil positif palsu maupun negatif palsu akibat dari substrat yang terhidrolisis

ketika pengujian sehingga akan memberikan hasil yang belum tentu sesuai. Maka perlu dilakukan upaya lain untuk mengidentifikasi bakteri sehingga dapat menentukan spesies bakteri tersebut dan melihat kemiripannya dengan bakteri selulolitik yang lain. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan analisis homologi 16S rRNA terhadap isolat *Bacillus* sp. yang telah diteliti sebelumnya dengan melakukan isolasi DNA kromosom, pengujian elektroforesis DNA, dan amplifikasi gen penyandi 16S rRNA menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yang kemudian dilakukan sekuensing gen penyandi 16S rRNA untuk mengetahui urutan basa nukleotidanya dan dibandingkan dengan yang terdapat pada *GenBank*.

1.2 Rumusan Masalah Penelitian

Berdasarkan latar belakang di atas maka didapatkan perumusan masalah sebagai berikut :

- a. Bagaimana pengaruh proses ekstraksi terhadap hasil isolasi DNA kromosom?
- b. Apakah spesies isolat bakteri penghasil enzim selulase yang berasal dari limbah ampas tebu adalah *Bacillus pumilus*?
- c. Bagaimana kedekatan spesies bakteri yang dihasilkan dengan bakteri selulolitik yang lainnya berdasarkan pohon filogeninya?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengidentifikasi isolat bakteri penghasil enzim selulase SF01 berdasarkan urutan basa nukleotidanya dan kedekatan spesies isolat bakteri SF01 dengan bakteri selulolitik yang lain.

1.4 Hipotesis Penelitian

Spesies dari isolat bakteri penghasil enzim selulase adalah *Bacillus pumilus*.

1.5 Manfaat Penelitian

Dengan penelitian ini diharapkan dapat mengidentifikasi isolat bakteri yang diperoleh merupakan spesies yang telah diketahui atau spesies baru dengan mengisolasi DNA kromosomnya dan amplifikasi gen penyandi 16S rRNA. Selain itu untuk menentukan kedekatan spesies bakteri dari isolat SF01 dengan bakteri selulolitik lainnya.